

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 01-137990

(43)Date of publication of application : 30.05.1989

(51)Int.Cl.

C12P 19/04
C08B 37/00
C12N 1/38
// (C12P 19/04
C12R 1:01)

(21)Application number : 62-293220

(71)Applicant : DAIICHI TOGYO KK

(22)Date of filing : 20.11.1987

(72)Inventor : IBUKI FUMIO
IWAMI KIMIKAZU
SHINOHARA SATOSHI

(54) POLYSACCHARIDE HAVING ACTIVITY FOR MULTIPLYING BIFIDOBACTERIUM

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide the titled polysaccharide which is an intracellular or extracellular polysaccharide produced by microorganisms, has a β -1,3-glucan polysaccharide structure and is useful for multiplying bifidobacterium bacteria and inhibiting putrefying bacteria within intestinal bacteria to prevent the aging of a mammal when given as a food or feed.

CONSTITUTION: A polysaccharide such as lenthinan, sizoflan, curdian or laminarin which is an intracellular or extracellular polysaccharide produced by microorganisms and has a β -1,3-glucan polysaccharide structure is provided by culturing a bacterium (FERM No.4257) belonging to the genus Aureobasidium of the family Dematiaceae in a liquid culture medium, sterilizing the cultured solution, concentrating the sterilized solution under reduced pressures, adding aluminum ions to the concentrated solution to coagulate and precipitate the polysaccharide contained in the solution, filtering the precipitate, washing the filtered precipitate and subsequently drying the washed precipitate. The addition of the polysaccharide to a mammal as a food or feed permits the multiplication of Bifidobacterium bacterial within intestinal bacteria.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

right (C); 1998,2003 Japan Patent Of

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平1-137990

⑬ Int. Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成1年(1989)5月30日

C 12 P 19/04

C 08 B 37/00

C 12 N 1/38

//(C 12 P 19/04

C 12 R 1:01)

C-7236-4B

P-6779-4C

8515-4B

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑮ 発明の名称 ビフィズス菌の増殖活性を有する多糖

⑯ 特 願 昭62-293220

⑰ 出 願 昭62(1987)11月20日

特許法第30条第1項適用 昭和62年5月24日 日本栄養・食糧学会開催の「第41回日本栄養・食糧学会総会」において文書をもって発表

⑱ 発 明 者 伊 吹 文 男 京都府京都市中京区西ノ京御奥岡町15-20

⑲ 発 明 者 岩 見 公 和 滋賀県滋賀郡志賀町小野水明2-19-18

⑳ 発 明 者 篠 原 智 宮崎県日向市高砂町8-14

㉑ 出 願 人 第一糖業株式会社 東京都中央区日本橋室町1丁目6番3号

㉒ 代 理 人 弁理士 箕 浦 清

明 細 書

1. 発明の名称

ビフィズス菌の増殖活性を有する多糖

2. 特許請求の範囲

- (1) 微生物の産生する細胞内、細胞外多糖でβ-1,3 グルカンの多糖構造をもつ多糖を食品、飼料として与えることにより腸内細胞の内、ビフィズス菌を増殖させることを特徴とするビフィズス菌の増殖活性を有する多糖。
- (2) オーレオバシジウム属の微工研寄託No.4257号菌を培養することにより細胞内外に産生するβ-1,3, β-1,6 グルカンの多糖構造をもつ多糖を食品、飼料として与えることにより腸内細胞の内、ビフィズス菌を増殖させることを特徴とする特許請求の範囲第1項記載のビフィズス菌の増殖活性を有する多糖。
- (3) 微生物の産生する細胞内、細胞外多糖がレンチネン、シドヒラン、カードラン、ラミナリン等のβ-1,3-グルカン又はβ-1,3-, β-1,

6-グルカンであることを特徴とする特許請求の範囲第1項又第2項記載のビフィズス菌の増殖活性を有する多糖。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明はビフィズス菌の増殖活性を有する多糖、更に詳しくは微生物の産生する難消化性多糖のβ-1,3 グルカン又はβ-1,3, β-1,6-グルカンを食品又は飼料に含有せしめることにより腸内細菌のうちビフィズス菌(Bifidus)を増殖せしめることを目的としたものである。

(従来の技術)

Bifido Bacterium菌は人腸内に生育する有用な細菌であり、特に母乳栄養児の腸内細菌の大部分を占めている。

その生理活性としては、腸内の腐敗抑制作用、Vitamin B₁, B₂ 合成能の他、乳酸、酢酸などの有機酸生成による病原菌の生産抑制などが知られている。

又無酸症、十二指腸カイヤウ、胃ガン、大腸

特開平 1-137990(2)

ガン、肝臓ガン患者の腸内ビフィズス菌が減少し、腐敗菌が増加する事、腐敗菌は腸内で蛋白質を徹底分解してNH₃を生産するが、ビフィズス菌は温和に分解しNH₃を生産しない事、微量のNH₃でも老人のボケに影響を与える、などの理由から老化防止の関連でも研究されている。

これらの事からビフィズス菌増殖物質の提供が強く要望されており、従来増殖促進物質として多くの物質が研究され、ラクチロース、フラクトオリゴ糖などが知られている。

(発明が解決しようとする問題点)

しかし、これらの物質は単糖が2~5ヶ連なった糖であり、比較的に酸による加水分解を受け易い物質である。

従って、これらの糖を清涼飲料など低いpHのもとで商品化する場合、保存中に加水分解して単糖となり、ビフィズス菌増殖促進の効果が失われる欠点があった。

此の点に立脚し、保存中に加水分解をしない

- 3 -

腸内細菌のうちビフィズス(Bifidus)菌を増殖させるのを目的とするもので、上記の凝集性を有する多糖はGlucoseの β -1,3結合を直鎖とし β -1,6結合の側鎖を有する多糖構造を有している。この多糖と同様にglucose β -1,3結合を有する多糖であれば同様の効果があるので、上記以外の微生物の産生するレンチナン、シゾフィラン、スクレログルカン、カードランなどのglucoseの β -1,3結合の直鎖を有する多糖も本発明の範囲に含まれる。

(実施例)

実施例-1

多糖の製造例

Dematiaceae科Aureobacium属に属するFERM-P No.4258号菌をC源(Sucrose)1%、N源0.1%、その他微量物質(ビタミン、無機質)よりなる培地に接種し、pH5.5;通気量 培地容量の1/2、溶存酸素:1.0ppm、温度25℃の条件で液体培養した。48時間培養によって産生する多糖を含む培養液を殺菌し、更に減圧濃縮した液を

- 5 -

ビフィズス菌増殖促進物質を探す目的で鋭意研究の結果、黒色菌科のAureobaciumに属する多糖生産菌を培養することによって得られる難消化性多糖の β -1,3、 β -1,6-グルカン(グルコースの β -1,3結合を直鎖としグルコースの β -1,6結合を側鎖とした多糖構造を有する多糖)である多糖類がこの条件に合致する事を見出し本発明に至ったものである。

(問題点を解決するための手段)

即ち本発明の要旨とする所は微生物の産生する細胞内、細胞外多糖で β -1,3グルカンの多糖構造をもつ多糖を食品、飼料として与えることにより腸内細胞の内、ビフィズス菌を増殖させることを特徴とするビフィズス菌の増殖活性を有する多糖に存する。

又本発明は黒色菌科(Dematiaceae)のオーレオバシジウム属(Aureobaculum)(Dematium)に属する菌工研寄託番号No.4257菌(FERM-P No.4257)を培養する事によって得られる凝集性を有する多糖を食品、並び飼料にすることにより

- 4 -

液状多糖のサンプルとした。(β -1,3直鎖, β -1,6側鎖多糖0.6%含有)

多糖の精製例

上記培養液を殺菌後A₁⁺⁺⁺1000ppmを添加し多糖を凝集沈澱させた後濾過し、10倍量の水で洗浄後風乾してこれを固型多糖のサンプルとした。

上記培養によって得られる多糖はグルコースの β -1,3結合を直鎖とし、それに β -1,6結合で分岐し、非還元性末端は38~48%を示す構造を主体としており、浸透圧による分子量測定によって平均分子量40万であった。

対照として市販のセルロースとカードランを比較実験した。これは、多糖類の構造特異性を見ることを目的とし、セルロースは β -1,4結合、カードランは β -1,3結合の代表として既知構造の多糖を選んで試験した。

試験 [I]

4週齢(初体重50g前後)のウィスター系雄ラットを用い、3通りの動物実験を行った。

- 6 -

特開平 1-137990(3)

試験〔Ⅰ〕では表 1 の基本飼料を与えたものを A 群とし、基本飼料からセルロースの 12.5%、25% を精製例で述べた固型多糖 (β -1,3, β -1,6 多糖) と置き換えたものを、夫々 B 群、C 群とし、自由摂取法により 12 時間明暗周期、恒温恒湿の部屋で飼育した。

25 日飼育後、両群ラットを屠殺し、血液採取と同時に盲腸内容物を取り出し、炭酸ガスで満した嫌気ジャー内で B.L. BS 寒天培地上で 37℃、48 時間培養を行い総嫌気性菌数、ビフィドバクテリウム (Bifido Bacterium) 菌数および両者の比を求めた。

結果はセルロースの替りに固型多糖 (β -1,3, β -1,6 多糖) を置き換えた、B 群、C 群とも、セルロースだけの A 群より嫌気性菌総数、ビフィズス菌ともに高くなり、又総嫌気性菌に占めるビフィズス菌の割合が A 群 25.8% に対し B 群 40.8%、C 群 40% と高くなった (第 1 図)。第 1 図では基本飼料を与えた A 群と、基本飼料中のセルロースの 12.5%、25% を本発明の固型

- 7 -

結果は実施例記載の液状多糖 (β -1,3, β -1,6 多糖 0.6% 含有) を飲料水のかたちで食した B 群がセルロースだけを食した A 群に比べて嫌気性菌総数、ビフィズス菌ともに高くなり、総嫌気性菌数に占めるビフィズス菌の割合が A 群 25.8%、B 群 45.3% と高くなった (第 2 図)。第 2 図では上記基本飼料と水道水で飼育したものを A 群とし、基本飼料よりセルロースを除き、その替りとして本発明の液状多糖を飲料水として与えたものを B 群として飼育し、A 群に比べ B 群が総嫌気性菌、ビフィズス菌共に増える事、又、総嫌気性菌に対するビフィズス菌の割合も増える事を示したものである。尚センイ質組織は、B 群の場合飼育期間中飲した飲料水中の本発明多糖量を、その期間食した飼料量の割合で示した。

試験〔Ⅲ〕

表 1 に示した基本飼料を与えたものを A 群とし、この基本飼料よりセルロースを除いた飼料を与えたものを B 群に分け、A 群には水道水を

- 9 -

多糖で置き換えた B、C 群に分けて飼育し、A 群に比べ B、C 群とも総嫌気性菌、ビフィズス菌共に増える事、又総嫌気性菌に対するビフィズス菌の割合も増える事を示したものである。

試験〔Ⅱ〕

表 1 に示した基本飼料を与えたものを A 群とし、この基本飼料よりセルロースを除いた飼料を与えたものを B 群に分け、A 群には水道水を与え、B 群には水道水の替りに実施例記載の液状多糖 (多糖 0.6% 含有) を与えた。

19 日間飼育する間、A 群では平均 695 ml、B 群では 599 ml の水を飲み、その間に食した β -1,3, β -1,6 多糖は A 群では 0、B 群では 3.6 g に相当した。

19 日飼育後試験 1 で示した方法で屠殺後、血液採取と同時に、盲腸内容物を取り出し、炭酸ガスで満した嫌気ジャー内で B.L. BS 寒天培地上で、37℃、48 時間培養を行い、総嫌気性菌数、ビフィドバクテリウム菌数および両者の比を求めた。

- 8 -

与え、B 群には水道水の替りにカードラン 0.6% 水溶液を与えた。

19 日飼育後試験 I で示した方法で総嫌気性菌数、Bifido Bacterium 菌数および両者の比を求めた。

結果は、カードランを飲料水のかたちで食した B 群がセルロースだけを食した A 群に比べて嫌気性菌総数、ビフィズス菌ともに高くなり、総嫌気性菌数に占めるビフィズス菌の割合が A 群 25.8%、B 群 40.2% と高くなった (第 3 図)。第 3 図は第 2 図における多糖をカードラン 0.6% 溶液で置き換えたものを示している。

以上明らかのように多糖類のうちグルコースの β -1,3 結合を直鎖にもつもの、及びその直鎖に更に、 β -1,6 結合の分岐をもつ多糖グループは共通してビフィズス菌を増殖させる事が明らかとなった。更に従来ビフィズス菌に有効な糖源としてフラクトオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖、キチン及び繊維類があげられているが、本発明多糖は糖源のみならず、これら多糖がも

- 10 -

特開平 1-137990(4)

つ物理・化学的性質や免疫性能も相俟って生体内のビフィズス菌を有効に増殖させるものである。

表 1 ラットの飼育試験に用いた基本飼料組成

カゼイン	20
トウモロコシの澱粉	65
混合油	5
ミネラル混合	5
ビタミン混合	1
セニイ質、セルロース粉末	4

(発明の効果)

本発明者は先に黒色菌科のオーレオバシジューム属に属する菌を培養することにより凝集活性物質の製法について出願しているが、本発明は前記の凝集活性を有する多糖の利用をビフィズス菌の増殖活性にまで拡張したもので、工業的に有用な発明である。

4. 図面の簡単な説明

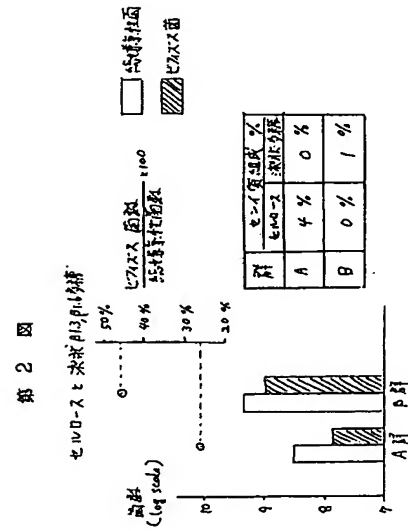
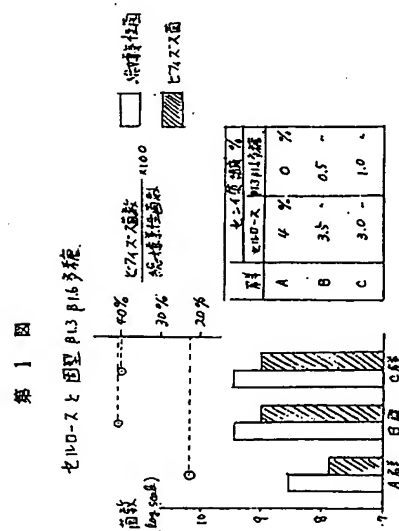
第1図はセルロースと固型 β -1,3, β -1,6 多糖をラットに投与したときのビフィズス菌の増殖促進効果を示した図表、第2図はセルロースと液状 β -1,3, β -1,6 多糖をラットに投与したときのビフィズス菌の増殖促進効果を示した図表、第3図はセルロースとカードランをラットに投与したときのビフィズス菌増殖促進効果を示した図表である。

代理人 弁理士 眞 浦 清



- 11 -

- 12 -



特開平 1-137990 (5)

第 3 図

